



Samenvatting proefschrift J.B. Doppenberg

“Functional Islets and Where to Find Them”

**Promotie: 27 januari 2022
Universiteit Leiden**

Promotor:
Prof.dr. E.J.P. de Koning

Copromotor:
Dr. M.A. Engelse

Eilandjestransplantatie is een uitstekende behandeloptie voor een selecte groep patiënten met type 1 diabetes. Het aantal transplantaties dat kan worden uitgevoerd wordt echter belemmerd door een aanhoudend tekort aan geschikte geïsoleerde eilandjes uit donorpancreassen. Het is daarom belangrijk om te onderzoeken hoe een zo groot mogelijk aantal eilandjes verkregen kan worden uit het huidige potentiële donorbestand, met behoud van een hoge mate van kwaliteit, na isolatie. Dit doel wordt samengevat in de volgende hoofdvraag binnen deze thesis: *“Hoe kunnen we een zo hoog mogelijk aantal vitaal en goed functionerende eilandjes van Langerhans isoleren uit de bestaande potentiële donorbestand?”*

In **hoofdstuk 2** wordt een overzicht gegeven van veel van de huidige uitdagingen met betrekking tot eilandjesisolatie en transplantatie. Dit overzichtsartikel beschrijft de ontwikkeling van eilandjesisolatie en transplantatie van een experimentele techniek tot een gevestigde behandeloptie voor patiënten met type 1 diabetes. Deze ontwikkeling werd gekatalyseerd door verscheidene innovaties die tot doel hadden de donorpancreassen beter te preserven, de isolatie efficiënter te maken, het verlies van eilandjes tijdens het kweken te beperken en de transplanteerbaarheid van een eilandjesproduct beter te beoordelen. Andere belangrijke kwesties die spelen nadat een eilandjesproduct geschikt is bevonden voor transplantatie worden ook besproken, zoals nieuwe methoden van immunosuppressie en innestelen. Ten slotte worden de methoden besproken die zijn ontwikkeld om de status van patiënten na eilandjestransplantatie te meten.



In **hoofdstuk 3** wordt het gebruik van donatie na circulatoire dood (donation after circulatory death - DCD) pancreassen voor eilandjesisolatie onderzocht. Het succes van donatie na hersendood (donation after brain death - DBD) creëerde zijn eigen grootste uitdaging: de frequentie van mogelijke donaties kon de behoefte aan geschikte donororganen niet bijhouden. Om aan deze vraag te voldoen moest het potentiële donorbestand worden uitgebreid en dit kon alleen worden gerealiseerd door de acceptatiecriteria voor donororganen te verruimen, die bekend kwamen te staan als "extended criteria donors" (ECD). Ook elk orgaan dat via DCD werd verkregen wordt als ECD beschouwd. In rechtsgebieden waar DCD uitnames waren toegestaan, werden formele richtlijnen opgesteld om deze praktijk mogelijk te maken. Aanvankelijke aarzeling rond het gebruik van DCD's vanwege de inherente warme ischemische periode tijdens de uitname leidde tot een langzame acceptatie van welke DCD organen geschikt waren voor transplantatie of eilandjesisolatie. De invoering van DCD in Nederland heeft geleid tot een aanzienlijk groter donorbestand. DCD uitnames komen nu vaker voor dan DBD uitnames.

Het Leidse eilandjeslaboratorium begon DCD-pancreassen te accepteren voor eilandjesisolatie nadat voorlopige resultaten van andere centra een goede opbrengst en een goede functionaliteit van de eilandjes na isolatie hadden aangetoond. In **hoofdstuk 4** worden de resultaten gepresenteerd van een retrospectieve studie naar het gebruik van eilandjes van DCD-pancreassen voor humane eilandjestransplantatie. Eenmaal geïsoleerd verminderen de eilandjes van DCD-pancreassen in IEQ tijdens het kweken, in een vergelijkbare verhouding als eilandjes van DBD-pancreassen. Deze resultaten leveren sterk bewijs voor de stelling dat pancreassen afkomstig van DCD geschikte ECD's zijn voor eilandjesisolatie en transplantatie. Isolaties uit pancreassen na DCD resulteren echter in minder IEQ dan uit pancreassen na DBD. Daarom moet bij de afweging of een DCD-pancreas voor isolatie in aanmerking komt, rekening worden gehouden met andere donor- en donatievariabelen, zodat de kans op het verkrijgen van voldoende eilandjes wordt vergroot.

In **hoofdstuk 5** wordt de ontwikkeling en validatie van een beslissingsinstrument voor de acceptatie van donorpancreassen, de Islet Isolation Outcome Prediction Score (IIOPS), gepresenteerd. Door retrospectief alle klinische eilandjesisolaties over een periode van negen jaar te analyseren, werd vastgesteld dat zeven donor/donatiefactoren het resultaat van de isolatie significant beïnvloeden. Dit waren BMI, donatietype (DCD/DBD), geslacht, laatst gemeten amylase, koude ischemietijd (CIT), lengte en leeftijd. Tezamen konden deze factoren 23% van de variantie in IEQ verklaren die gevonden werd in het ontwikkelingscohort (n=286), en 22% van de variantie die gevonden werd in het validatiecohort (n=100). Dit instrument kan zeer nuttig zijn bij het identificeren van geschikte donoren voor eilandjesisolatie.



De ILOPS toonde ook aan dat CIT een negatief effect heeft op het isolatieresultaat: elk extra uur statische koude preservatie (static cold storage - SCS) verlaagde de verkregen IEQ. In **hoofdstuk 6** wordt een nieuwe benadering gepresenteerd om de preservatie van het pancreas te verbeteren. Een op maat gemaakt apparaat dat in staat is tot dubbele arteriële geoxygeneerde hypothermische machine perfusie (HMP) tijdens het transport werd doorontwikkeld en gebruikt voor de isolatie van humane eilandjes van DCD-pancreassen. Er werden goede resultaten gevonden in termen van IEQ na isolatie, IEQ in kweek, viabiliteit, morfologie, functionaliteit *in vitro*, en functionaliteit *in vivo* na transplantatie in diabetische muizen. Deze uitkomstparameters waren in overeenstemming met de resultaten van isolaties met DBD-pancreassen na SCS. Een uitdaging voor de implementatie van ons systeem van HMP tijdens het transport is of het logistieke aspect van het voorbereiden van een pancreas voor HMP na een multi-orgaandonatie in het donorziekenhuis kan worden gerealiseerd. Dit kan worden bereikt door verdere opleiding van het uitname-team, of door een beroep te doen op een technicus die in de techniek is opgeleid.

Een andere technologische innovatie wordt in **hoofdstuk 7** gepresenteerd. Om de technisch complexe en tijdrovende eilandjesisolaties te vereenvoudigen en te optimaliseren, wordt een nieuwe techniek beschreven, de PancReatic Islet Separation Method (PRISM). Isolaties met deze methode zijn steriel, snel, reproduceerbaar en vereisen minder personeel. Door gebruik te maken van een continue centrifugekom om gedigesteerd pancreasweefsel te verzamelen, te wassen en te zuiveren (door een dichtheidsgradiënt te creëren), werden een vergelijkbaar aantal eilandjes geïsoleerd als met de traditionele methode. Deze eilandjes hadden een gelijkaardige morfologie en waren ook even functioneel als de eilandjes die met de traditionele methode werden geïsoleerd. De PRISM-techniek kan leiden tot een aanzienlijke verbetering van de efficiëntie van eilandjesisolatie.

De hoofdstukken van dit proefschrift laten zien waar geschikte pancreassen voor eilandjes isolatie en transplantatie kunnen worden geïdentificeerd binnen het bestaande donorbestand. Dit heeft bijgedragen aan een robuustere besluitvorming over de toewijzing van pancreassen in het Leidse eilandjeslab. Ook technieken om pancreassen te conserveren en er eilandjes uit te isoleren worden onderzocht binnen de hoofdstukken van dit proefschrift. Dit heeft onze groep aangezet tot het ontwerpen en bouwen van een machine die gebruik maakt van de PRISM-techniek.